

УДК 543.061

ЭКСТРАКЦИОННО-ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПИЩЕВЫХ КРАСИТЕЛЕЙ И ИХ ПОЛУПРОДУКТОВ В ПИЩЕВЫХ ОБЪЕКТАХ

Я.И.Коренман, П.Т.Суханов, А.С.Губин
Воронежская государственная технологическая академия
394000, Воронеж, пр. Революции, 19
korenman@vrn.vgta.ru

Поступила в редакцию 12 ноября 2004 г.

Для эффективного извлечения пищевых красителей и их полупродуктов из разбавленных водных растворов предложена экстракция смесями ацетона с диацетоновым спиртом в присутствии сульфата аммония и N-цетилпиридинийхлорида. Разработан экстракционно-хроматографический способ определения красителей и исходных кислот в пищевых продуктах (напитки, кондитерские изделия, йогурты).

Коренман Яков Израильевич – доктор химических наук, профессор, заслуженный деятель науки и техники РФ, заведующий кафедрой аналитической химии Воронежской государственной технологической академии.

Область научных интересов: установление общих закономерностей межфазного распределения ароматических соединений в системах с гидрофобными и гидрофильными органическими растворителями, разработка новых способов определения токсикантов, супертоксикантов, канцерогенов в водах, почве и пищевых продуктах.

Автор более 800 статей, 120 изобретений, 6 монографий, справочника, 5-томного практикума по анализу пищевых продуктов, 2 задачника.

Суханов Павел Тихонович – кандидат химических наук, доцент кафедры аналитической химии Воронежской государственной технологической академии.

Область научных интересов: распределение биядерных ароматических соединений между органической и водной фазами, концентрирование и определение микроколичеств нафтолов и их производных в водах.

Автор 40 статей, 10 изобретений, 2 задачников.

Губин Александр Сергеевич – аспирант кафедры аналитической химии Воронежской государственной технологической академии.

Область научных интересов: распределение фенол- и нафтолсульфоокислот между органической и водной фазами, концентрирование и определение сульфоокислот в водных средах и пищевых продуктах.

В производстве продуктов питания широкое распространение получили пищевые красители. Значительную их долю составляют азокрасители, в основном производные нафтолсульфоокислот, которые при сочетании с нафтионовой или сульфаниловой кислотой образуют ярко-окрашенные и легко растворимые в воде соединения. Многие из этих веществ негативно влияют на здоровье человека [1]. Известны данные о нормировании синтетических окрашивающих веществ в пищевых объектах [2, 3]. Основными способами определения красителей являются спектрофотометрия [4], хроматография в тонком слое сорбента с последующим фотометрическим

определением [5] и метод ТСХ с подвижной и неподвижной фазами, модифицированными поверхностно активными веществами [6].

Большинство красителей содержится в пищевых продуктах в незначительных количествах (как правило, не более 200 мг/кг продукта), поэтому для их надежного определения необходима стадия предварительного концентрирования. Нами предлагается способ экстракционно-хроматографического определения наиболее распространенных красителей: динатрий-4-гидрокси-3-(4-сульфонато-1-нафтилазо)-1-нафталинсульфонат (пищевой краситель Е 122); динатрий-6-гидрокси-5-[(4-сульфобензил)-азо-]-2-нафталинсуль-

фонат (пищевой краситель "солнечный закат", Е 110); тринатрий-3-гидрокси-4-(4-сульфонато-1-нафтилазо)-2,7-нафталиндисульфат (пищевой краситель "амарант", Е 123); тринатрий 2-гидрокси-1-(4-сульфонато-1-нафтилазо)-6,8-нафталиндисульфат (пищевой краситель пунцовый 4R, Е 124). Способ включает также определение исходных продуктов синтеза азокрасителей, содержание которых в красителях нормируется: 1-нафтол (1Н), 2-нафтол (2Н), 1-нафтол-4-сульфокислота (1Н4СК) и 2-нафтол-6-сульфокислота (2Н6СК). Красители и полупродукты определяли методом хроматографии на бумаге после экстракционного концентрирования. Для экстракции объектов исследования применена эквимольная смесь ацетон – диацетоновый спирт в присутствии N-цетилпиридинийхлорида, для элюирования – смесь ацетон – диацетоновый спирт – вода.

Реагенты и оборудование

Коммерческие препараты нафтолсульфокислот (НСК) и нафтолов дважды перекристаллизовывали из гексана, идентифицировали по температурам плавления (1Н и 2Н) или молярным коэффициентам светопоглощения (НСК). Диацетоновый спирт дважды перегоняли и идентифицировали по показателю преломления. Остальные реактивы (4-аминоантипирин, карбонат натрия, нитрит натрия, сульфаниловая кислота, хлороводородная кислота, сульфат аммония, раствор аммиака, хлорид аммония, персульфат аммония, N-цетилпиридинийхлорид) квалификации ч.д.а., ацетон - квалификации ос.ч. Пищевые красители (промышленные образцы) содержали 99,1 % основного вещества. Компоненты фотометрических реагентов готовили по известным методикам [7]. Для разделения соединений применяли фильтровальную бумагу "синяя лента", которую предварительно промывали ацетоном и водой, высушивали при 105°C.

Методика эксперимента

Эффективность экстракционного извлечения оценивали по коэффициентам распределения, степени извлечения и коэффициентам концентрирования.

Коэффициент распределения (D) вычисляли по уравнению

$$D = [(A - A_p)/A_p] \cdot (V_b/V_o),$$

где A, A_p – оптические плотности раствора до и после экстракции соответственно; V_o, V_b – объемы равновесных органической и водной фаз, см³ (предварительно устанавливали соблюдение ос-

новного закона светопоглощения).

Степень извлечения (R, %) рассчитывали по уравнению

$$R = D/[D + (V_b/V_o)].$$

Коэффициент концентрирования (K) вычисляли по уравнению

$$K = (100D/R) - D,$$

где R = 97 % (практически полное извлечение кислот).

К 50 см³ раствора, содержащего 10⁻⁶ – 10⁻⁴ моль/дм³ 1Н4СК, 2Н6СК, 2Н68СК, красители Е 110, Е 122, Е 123 и Е 124, 1Н и 2Н добавляли N-цетилпиридинийхлорид с таким расчетом, чтобы получился раствор с концентрацией 10⁻³ моль/дм³, затем вводили кристаллический сульфат аммония до насыщения. Отбирали 10 см³ анализируемого раствора, добавляли 1 см³ смеси ацетон – диацетоновый спирт, экстрагировали на вибросмесителе 7 – 10 мин и отделяли экстракт. Шприцем отбирали 0,025 см³ экстракта и наносили на линию старта в нижней части бумаги. Смесь растворителей (ацетон – диацетоновый спирт – вода в объемном соотношении 1 : 1 : 0,3 при анализе пищевых красителей и 1 : 1 : 0,5 при анализе полупродуктов) помещали на дно хроматографической камеры. После разделения смеси красители обнаруживали по собственной окраске, остальные компоненты проявляли растворами 4-аминоантипирина или сульфаниловой кислоты (табл. 1). Компоненты идентифицировали в присутствии стандартных растворов определяемых веществ, сравнивая окраску пятен исследуемого и стандартного компонента после обработки проявителями и по коэффициенту смещения

$$R_f = X/X_r,$$

где X – расстояние от стартовой линии до центра зоны; X_r – расстояние, пройденное за такое же время растворителем.

Для количественного определения кислот по хроматограмме вырезали окрашенные зоны, высушивали и взвешивали на аналитических весах, строили градуировочные графики зависимости массы пятна от концентрации сульфокислоты. В табл. 1 приведены коэффициенты регрессии градуировочных графиков, рассчитанные методом наименьших квадратов.

Подготовка пищевого продукта к анализу.

Предварительная подготовка негазированных напитков не требуется. Газированные воды

предварительно дегазировали, молочные продукты центрифугировали для осаждения белков.

Леденцовые конфеты, джемы, варенье растворяли в минимальном объеме воды.

Таблица 1

Проявители, окраска пятен и коэффициенты регрессии градуировочных графиков ($c = am + b$) при экстракционно-хроматографическом определении нафтолсульфокислот, азокрасителей и нафтолов

Определяемое вещество	Проявитель	Цвет окрашенной зоны	Коэффициенты регрессии	
			<i>a</i>	<i>b</i>
2-Нафтол-6,8-дисульфокислота	4-Аминоантипирин (рН 10)	Розовый	0,85	0
1-Нафтол-4-сульфокислота	4-Аминоантипирин (рН 8)	Розовый, 2Н6СК не мешает определению при концентрациях меньше 10^{-4} моль/дм ³	0,84	0
	Диазотированная сульфаниловая кислота	Ярко-желтый	1,05	0,11
2-Нафтол-6-сульфокислота	4-Аминоантипирин (рН 10)	Вишневый	0,87	0
	Диазотированная сульфаниловая кислота	Желтый или оранжево-желтый (при концентрациях выше $0,5 \cdot 10^{-4}$ моль/дм ³)	0,87	0
Краситель Е 110	-	Желтый или оранжево-желтый (при концентрациях выше $0,5 \cdot 10^{-4}$ моль/дм ³)	1,0	0
Краситель Е 122	-	Темно-красный	1,04	0,09
Краситель Е 123	-	Ярко-красный	1,04	0
Краситель Е 124	-	Ярко-красный	1,12	0
1-Нафтол	4-Аминоантипирин (рН 10)	Вишнево-коричневый	-	-
2-Нафтол	4-Аминоантипирин (рН 10)	Вишнево-коричневый	-	-

Анализ пищевого продукта.

К 50 см³ анализируемого раствора (напиток, водный экстракт) добавляли N-цетилпиридинийхлорид до получения раствора с концентрацией 10^{-3} моль/дм³ и кристаллический сульфат аммония до насыщения. Отбирали 10 см³ раствора, добавляли 1 см³ смеси ацетон – диацетоновый спирт, экстрагировали на вибросмесителе 7 – 10 мин и отделяли экстракт. Далее анализ выполняли, как при построении градуировочного графика.

Обсуждение результатов

Для определения красителя или полупродукта выбирали экстракционную систему, обеспечивающую практически полное (95 %-ное и более) извлечение определяемого компонента; при соблюдении этого условия погрешность, вносимая на стадии пробоподготовки, минимальна. При разработке способа концентрирования и определения установлено, что красители и их полупродукты не извлекаются водой из мясных, рыбных продуктов и сыров, поэтому для их анализа дан-

ный способ не применим.

Гидрофильная сульфогруппа существенно повышает растворимость вещества в воде, поэтому сульфокислоты образуют значительно более прочные гидраты по сравнению с нафтолами. Для экстракции НСК и их производных применяли смесь высокогидрофильных растворителей (эквивалентная смесь ацетон – диацетоновый спирт) в присутствии N-цетилпиридиний хлорида (табл. 2).

Повышение эффективности извлечения объектов исследования в присутствии N-цетилпиридинийхлорида обусловлено образованием ионных ассоциатов с сульфогруппами кислот и пищевых красителей, которые более гидрофобны и поэтому значительно легче извлекаются. Ввиду того, что молекула N-цетилпиридинийхлорида взаимодействует с одной сульфогруппой, при анализе смеси неизвестного состава к раствору добавляли избыток ПАВ. Учитывая природу растворителей, извлечение кислот происходит также за счет образования Н-связей между ОН-группой сульфокислоты и экстрагентами.

Таблица 2

Коэффициенты распределения в отсутствие (D) и в присутствии ПАВ ($D_{\text{ПАВ}}$), степень извлечения ($R_{\text{ПАВ}}$) при экстракции эквимольной смесью ацетон – диацетоновый спирт, коэффициенты концентрирования ($K_{\text{ПАВ}}$) и смещения (R_f) нафтолсульфокислот, красителей и нафтолов; $n = 5$; $P = 0,95$

Определяемое вещество	D	$D_{\text{ПАВ}}$	$R_{\text{ПАВ}}$, %	$K_{\text{ПАВ}}$	R_f
2-Нафтол-6,8-дисульфокислота	163±10	275±18	96,5±0,2	8,6±0,5	0,84±0,03* 0,75±0,04**
1-Нафтол-4-сульфокислота	320±15	532±26	98,1±0,1	16,5±0,7	0,70±0,02* 0,69±0,03**
2-Нафтол-6-сульфокислота	322±12	538±25	98,1±0,1	16,7±0,6	0,69±0,02* 0,70±0,03**
Краситель Е 110	495±21	1037±51	99,0±0,1	32,1±1,5	0,65±0,02* 0,60±0,02**
Краситель Е 123	550±28	1120±50	99,2±0,1	34,9±1,4	0,64±0,02* 0,54±0,03**
Краситель Е 124	820±40	1820±67	99,5±0,1	56,3±2,0	0,60±0,02* 0,46±0,04**
Краситель Е 122	1255±77	2505±94	99,6±0,1	77,5±2,8	0,51±0,04* 0,38±0,02**
1-Нафтол	10,1±0,5	11,0±0,9	52,3±2,0	0,34±0,02	0,12±0,02*
2-Нафтол	9,4±0,5	10,1±0,5	50,2±1,2	0,31±0,01	0,10±0,02*

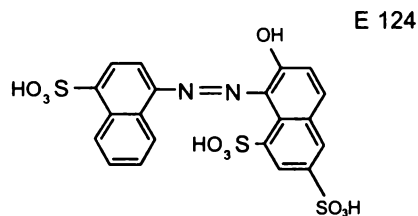
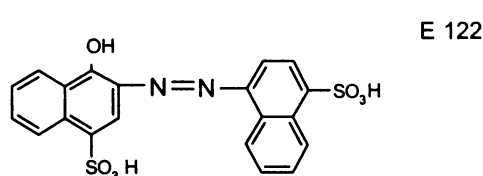
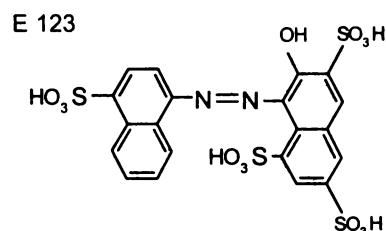
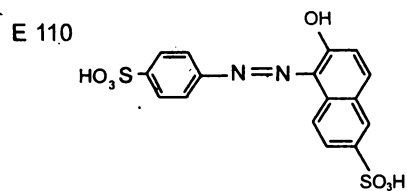
* при элюировании смесью ацетон – диацетоновый спирт – вода (1 : 1 : 0,5).

** при элюировании смесью ацетон – диацетоновый спирт – вода (1 : 1 : 0,3).

Установлена обратная зависимость между коэффициентами распределения и величинами R_f (табл. 2). Максимальные значения R_f и минимальные коэффициенты распределения характерны для наиболее гидрофильной кислоты 2Н68СК (содержит две гидрофильные сульфогруппы). Менее гидрофильные кислоты 1Н4СК и 2Н6СК (содержат одну сульфогруппу) легче извле-

каются в органическую фазу в присутствии N-цетилпиридинийхлорида, но мало подвижны при хроматографировании. Введение в молекулу сульфокислоты крупного заместителя (фенольное или нафталиновое кольцо, диазогруппа) снижает растворимость красителя.

Структура определяемых азокрасителей приведена ниже.



Взаимосвязь между гидрофильностью красителей, коэффициентами распределения и коэффициентами смещения аналогична системам с нафтолди-сульфокислотами и моносульфокислотами. Краситель Е 122, содержащий 2 сульфогруппы и 2 нафталиновых кольца, наименее растворим и характеризуется наибольшими коэф-

фициентами распределения и минимальными значениями R_f . Легко растворим в воде краситель Е 110 (содержит бензольное и нафталиновое кольца, 2 сульфогруппы), поэтому для него коэффициент R_f максимален, а коэффициенты распределения наименьшие. Красители Е 110 и Е 123 (в их составе 2 нафталиновых кольца и 4 сульфогруппы)

одинаково растворимы в воде, при хроматографировании смесью ацетон – диацетоновый спирт – вода, взятых в соотношении 1 : 1 : 0,5, не разделяются (табл. 2). Для их разделения применяли элюент с меньшим объемным содержанием воды (1 : 1 : 0,3). Уменьшение содержания воды приводит к ухудшению разделения более растворимых НСК (табл. 2), однако селективность разделения красителей при этом повышается. Нафтолы в предлагаемых условиях хроматографического разделения характеризуются малыми значениями R_f , количественно их не определяли.

Предлагаемая методика экстракционно-хроматографического определения рекомендуется для определения красителей и их полупродуктов в кондитерских изделиях, йогуртах и напитках. Анализ не связан с применением дефицитного и

дорогостоящего оборудования и реактивов, время единичного определения в пределах 40 мин, погрешность не более 15 %.

В табл. 3 приведены результаты анализа пищевых продуктов (леденцовые конфеты, конфеты с джемом, вина, газированные напитки, концентраты, йогурты) разных стран-производителей (Россия, Украина, Польша). Полученные результаты сопоставлены с нормативными требованиями. Установлено, что из 14 объектов анализа 7 не соответствуют стандартам, действующим в России. В пищевых продуктах польского производства значительно завышено содержание красителей и их полупродуктов, а также найдены запрещенные красители (Е 123) и неидентифицированные компоненты, вероятно, это побочные продукты синтеза красителей.

Таблица 3

Результаты определения гидроксисульфосоединений в пищевых продуктах (n = 5, P = 0,95)

Продукт, производитель	Идентифицированные соединения	Рекомендуется, мг/кг	Установлено, мг/кг
1	2	3	4
Йогурт клубничный, Воронеж	Е122	< 57	28,1 ± 1,2
Йогурт персиковый, Воронеж	Е110	Суммарное содержание красителей не более 50	17,8 ± 2,0
	Е122		7,7 ± 0,8
Конфеты "Апельсиновые", Белгородская обл.	Е 110	< 50	31,1 ± 3,0
Напиток "Апельсин", Москва	Е 110	< 30	117 ± 5
Конфеты "Вишневые", Самара	Е 124 (в джеме)	< 200	220 ± 11
Вино «Улыбка», Краснодарский край	Е 124	< 15	218 ± 11
Конфеты "Персик", Украина	Е 110	Суммарное содержание красителей < 50	15,2 ± 1,5
	Е 124		7,5 ± 0,8
Конфеты "Абрикос", Украина	Е 110	< 50	18,9 ± 2,1
Конфеты "Клубника со сливками", Украина	Е 124 (в джеме)	< 200	20,5 ± 1,1
Вино «Середнянский закат», Украина, Ужгородская обл.	Не обнаружены	-	-
Напиток "Персик", Польша	Е 110; Е 124; Е 123; 2Н6СК;	Суммарное содержание красителей < 15; нафтолсульфокислот < 0,45; Е 123 -отсутствие; Нафтолы - отсутствие	113 ± 5 103 ± 5 250 ± 12 10,2 ± 0,9
	1 неидентифицированное вещество, $R_f = 0,77 \pm 0,02$; 2 неидентифицированных вещества, $R_f = 0,37 \pm 0,02$; Нафтолы		Нафтолы количественно не определяли

Окончание табл.3

1	2	3	4
Напиток "Малина", Польша	Е 123; 2Н6СК; Нафтолы	Е 123 – отсутствие; 2Н6СК < 0,45 Нафтолы - отсутствие	475 ± 28 11,0 ± 0,7 -
Narój malinowy, Польша	Е 122; Е 124; 2Н6СК	Содержание красителей < 15, 2Н6СК < 0,45	347 ± 15 215 ± 11 2Н6СК - следы
Herbatka (лимон), Польша	Е 110; 2Н6СК	Е 110 - < 30, 2Н6СК - 0,90	135 ± 7 2Н6СК - следы

ЛИТЕРАТУРА

1. IARC monographs on the Evalution of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. IARS, Lion, France. 1972-1985. 332 p.
2. Сарафанова Л.А. Пищевые добавки: Энциклопедия. СПб.: ГИОРД, 2003. 688 с.
3. Сарафанова Л.А. Применение пищевых добавок: Технические рекомендации. СПб.: ГИОРД, 2002. 160 с.
4. Аналитическая химия синтетических красителей / Под ред. К. Венкатарамана. Л.: Химия, 1979. 574 с.
5. Kataeva S.E. Sample prepare of food products for dyestuffs determination / S.E.Kataeva, T.A.Melnichenko /
6. Сумина Е.Т. Применение ПАВ для модификации подвижной и неподвижной фаз при определении пищевых красителей методом ТСХ / Е.Т.Сумина, Е.В.Ермолаева, Н.В.Тюрина, С.Н.Штыков // Зав. лаб. 2001, № 5, С.8-12.
7. Коренман И.М. Фотометрический анализ. Методы определения органических соединений. М.: Химия, 1975. 359 с.

* * * * *

EXTRACTION-CHROMATOGRAPHIC DETERMINATION OF FOOD DYES AND THEIR SEMIPRODUCTS IN FOOD OBJECTS

Ja.I.Korenman, P.T.Sukhanov, A.S.Gubin

Extraction with mixture of acetone and diacetone alcohol at presents of ammonium sulfate and N-cetylpyridiniumchloride was user for effective recovery of food dyes and their semiproducts from aqueous solutions. New extraction- chromatographic method of dyes determination in drinks, alcohol production, sweets e.t.c. was developed.